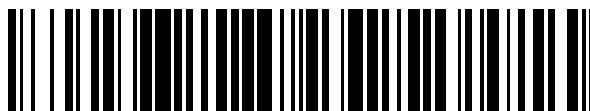


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 388 454**

51 Int. Cl.:
C07D 401/04 (2006.01)
C07D 403/04 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08718785 .2**
96 Fecha de presentación: **19.03.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2139879**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.01.2010**

54 Título: **Derivados de quinolina para el tratamiento de enfermedades inflamatorias**

30 Prioridad:
22.03.2007 US 896298 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.10.2012

73 Titular/es:
AstraZeneca AB
151 85 Södertälje, SE

72 Inventor/es:
GUILE, Simon, David y
EBDEN, Mark

74 Agente/Representante:
Lehmann Novo, Isabel

ES 2 388 454 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de quinolina para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

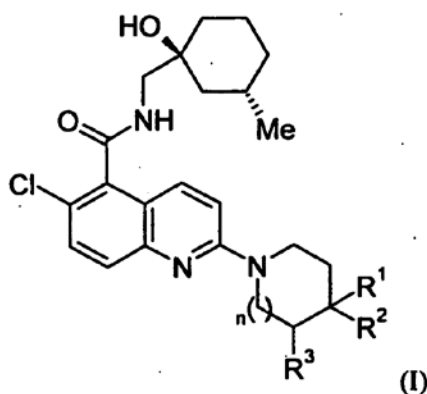
La presente invención se refiere a derivados de quinolina, a procedimientos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que los contienen, a un procedimiento para preparar composiciones farmacéuticas, y a su uso en terapia.

El receptor P2X₇ (conocido previamente como receptor P2Z), que es un canal iónico de apertura y cierre por ligandos, está presente en una variedad de tipos de células, en gran parte en aquellas que se sabe que están involucradas en el proceso inflamatorio/inmunitario, específicamente macrófagos, mastocitos y linfocitos (T y B). La activación del receptor P2X₇ por nucleótidos extracelulares, en particular trifosfato de adenosina, conduce a la liberación de interleucina-1β (IL-1β) y a la formación de células gigantes (macrófagos/microglíocitos), a la desgranulación (mastocitos) y proliferación (células T), y a la apoptosis y al desprendimiento de L-selectina (linfocitos). Los receptores P2X₇ están localizados también en las células presentadoras de antígeno (APC), en queratinocitos, en células acinares de la saliva (células de las parótidas), en hepatocitos y en células mesangiales. Sería deseable producir compuestos eficaces como antagonistas del receptor P2X₇ para uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, inmunitarias o cardiovasculares, en cuyas etiologías el receptor P2X₇ puede jugar un papel.

Una propiedad importante para que un fármaco actúe como un antagonista del receptor P2X₇ es que tenga potencia elevada. Además, también es deseable que dichos fármacos tengan una selectividad y propiedades farmacocinéticas buenas con el fin de potenciar más la eficacia del fármaco. Como ejemplo, puede ser ventajoso que dichos fármacos presenten baja actividad frente al canal de potasio codificado por el gen humano relacionado con el gen éter-a-go-go (hERG). A este respecto, la baja actividad frente a la unión a hERG *in vitro* indica una baja actividad *in vivo*.

Los antagonistas de P2X₇ que comprenden grupos quinolinilo son conocidos de los documentos WO2003/080579, WO2004/106305, WO2005/009968 y WO2006/059945. Desde J. of Medicinal Chem., vol. 15, p. 642-646 (1972), se conocen ciertos análogos disustituidos de acetilcolina. Ahora se ha encontrado sorprendentemente que una nueva clase pequeña de compuestos descritos genéricamente en el documento WO2004/106305 presentan propiedades farmacéuticas ventajosas. Por ejemplo, además de tener una potencia elevada, los compuestos de la presente invención presentan actividad muy baja frente a la unión a hERG, potenciando su idoneidad para su uso como productos farmacéuticos.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona por lo tanto un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



en la que n es 0 ó 1;

cuando n es 0, R¹ representa hidrógeno o metilo, R² representa hidroxilo, y R³ representa hidrógeno; y

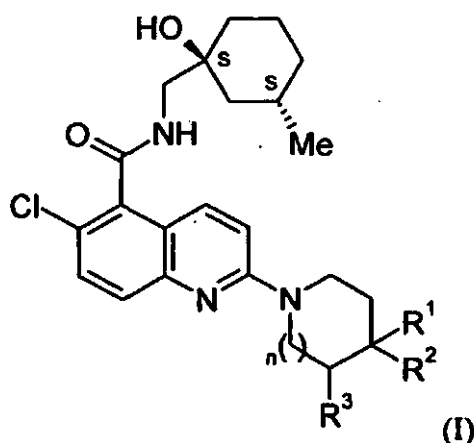
cuando n es 1, R¹ representa hidrógeno y uno de R² y R³ representa hidroxilo y el otro de R² y R³ representa hidrógeno.

Se entenderá que ciertos compuestos de la presente invención pueden existir en formas solvatadas, por ejemplo hidratadas, así como no solvatadas. Se entenderá que la presente invención abarca todas las citadas formas solvatadas.

Los compuestos de la presente invención tienen una actividad antagonista de P2X₇ muy elevada. Además, tienen una afinidad particularmente baja por el canal de potasio codificado por el gen humano relacionado con el gen éter-a-go-go (hERG), y por lo tanto son ventajosos con respecto a los márgenes de seguridad.

Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula (I) incluyen, pero sin limitar, sales de adición de ácido tales como sal de hidrocloreuro, hidrobromuro, fosfato, acetato, fumarato, maleato, tartrato, citrato, oxalato, metanosulfonato o p-toluenosulfonato. En una realización de la invención, las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de fórmula (I) se seleccionan de sal de hidrocloreuro, hidrobromuro, fosfato, tartrato, citrato, oxalato, metanosulfonato o p-toluenosulfonato.

Los compuestos de la presente invención contienen dos centros quirales situados en el anillo de ciclohexilo en la fórmula (I). Uno de los centros quirales está situado en el átomo del anillo de ciclohexilo al que está unido directamente (la posición 1) el sustituyente hidroxílico, y el otro está situado en el átomo del anillo de ciclohexilo al que está unido directamente (la posición 3) el sustituyente metílico. En la presente invención, la configuración estereoquímica en ambos de estos centros quirales es (S) (estereoisómeros (1S, 3S)), como se designa mediante el sistema de Cahn-Ingold-Prelog y como se representa en la estructura de fórmula (I) a continuación.



En realizaciones de la invención en las que n es 0, los compuestos de fórmula (I) contienen un centro quiral adicional en el átomo de carbono al que están unidos directamente tanto R^1 como R^2 . La presente invención engloba compuestos de todas las configuraciones estereoquímicas en esta posición, incluyendo sus mezclas.

En una realización de la invención, n es 0, R^1 representa hidrógeno o metilo, R^2 representa hidroxilo y R^3 representa hidrógeno.

En una realización de la invención, n es 0, R^1 representa hidrógeno, R^2 representa hidroxilo y R^3 representa hidrógeno. En un aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que están unidos directamente R^1 y R^2 tiene una configuración S. En otro aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que están unidos directamente R^1 y R^2 tiene una configuración R.

En una realización de la invención, n es 0, R^1 representa metilo, R^2 representa hidroxilo y R^3 representa hidrógeno. En un aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que están unidos directamente R^1 y R^2 tiene una configuración S. En otro aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que están unidos directamente R^1 y R^2 tiene una configuración R.

En una realización de la invención, n es 1, R^1 representa hidrógeno y uno de R^2 y R^3 representa hidroxilo y el otro de R^2 y R^3 representa hidrógeno.

En una realización de la invención, n es 1, R^1 representa hidrógeno, R^2 representa hidroxilo y R^3 representa hidrógeno.

En una realización de la invención, n es 1, R^1 representa hidrógeno, R^2 representa hidrógeno y R^3 representa hidroxilo. Los compuestos según esta realización contienen un centro quiral adicional en el átomo de carbono al que está unido directamente R^3 . La presente invención engloba todas las configuraciones estereoquímicas en esta posición, incluyendo sus mezclas. En un aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que está unido directamente R^3 tiene una configuración S. En otro aspecto de esta realización, el centro quiral en el átomo de carbono al que está unido directamente R^3 tiene una configuración R.

Los compuestos de la presente invención contienen dos centros quirales situados en el anillo de ciclohexilo en la fórmula (I). La configuración estereoquímica en ambos de estos centros quirales es S, es decir, son estereoisómeros (1S, 3S). Para evitar dudas, los estereoisómeros (1S, 3S) de la presente invención pueden estar presentes como una mezcla con uno o más de los otros estereoisómeros posibles en estos centros quirales, es decir, los estereoisómeros (1R, 3R), (1R, 3S) y (1S, 3R). Por ejemplo, el estereoisómero (1S, 3S) puede estar presente en una mezcla 1:1 con el estereoisómero (1R, 3R).

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es ópticamente puro en los centros quirales (1S, 3S). En una realización adicional, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es ópticamente puro en todos sus centros quirales.

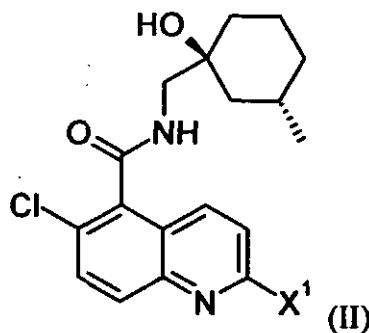
5 En el contexto de la presente memoria descriptiva, la expresión ópticamente puro se define en términos de exceso enantiomérico (e.e.) y exceso diastereomérico (d.e.), que se calculan a partir de la relación de la diferencia entre las cantidades de los respectivos enantiómeros/diastereómeros presentes y la suma de estas cantidades, expresados como porcentaje. Como ilustración, una preparación que contiene 95% de un enantiómero y 5% de otro enantiómero tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de 90% [es decir, $(95-5)/(95+5) \times 100$]. El exceso diastereomérico se define análogamente al exceso enantiomérico. De acuerdo con la presente invención, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 90%. En una realización de la invención, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 95%. En una realización adicional de la invención, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 98%. Cuando el compuesto tiene diastereoisómeros, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 90% y un exceso diastereomérico (d.e.) de al menos 90%. En una realización de la invención, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 95% y un d.e. de al menos 95%. En una realización adicional de la invención, los compuestos ópticamente puros tienen un e.e. de al menos 98% y un d.e. de al menos 98%.

En una realización de la invención, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de:

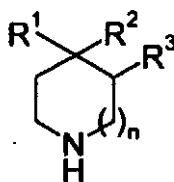
6-cloro-*N*-{[(1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3S)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida,
6-cloro-*N*-{[(1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida,
20 6-cloro-*N*-{[(1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-(4-hidroxipiperidin-1-il)quinolin-5-carboxamida, y
6-cloro-*N*-{[(1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-(3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)quinolin-5-carboxamida,
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

La presente invención proporciona además un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define anteriormente, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, que comprende:

25 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula



en la que X¹ representa un grupo saliente adecuado (por ejemplo halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) con un compuesto de fórmula (III)



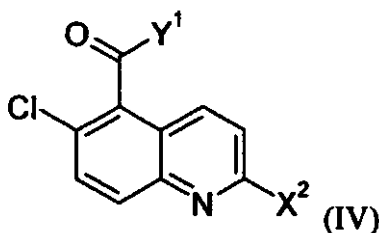
30 en la que R¹, R², R³ y n son como se definen en la fórmula (I), y formar opcionalmente una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto.

La reacción de (II) y (III) se puede llevar a cabo en disolventes orgánicos, tales como metanol, acetonitrilo, *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido o 1-metil-2-pirrolidiona, y en presencia de una base adecuada tal como hidruro

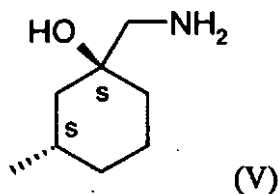
sódico, trietilamina, diisopropilamina o carbonato de potasio, a una temperatura en el intervalo de 50°C a 150°C, en particular de 80°C a 120°C, ya sea en un microondas o mediante condiciones térmicas convencionales.

Los compuestos de fórmula (III), ya sea como la base libre o como una sal (las sales aceptables de un compuesto de fórmula (III) incluye, pero no se limitan a, sales de adición de ácidos, tales como una sal de hidrocloreto, hidrobromuro, fosfato, acetato, fumarato, maleato, tartrato, citrato, oxalato, metanosulfonato o p-toluenosulfonato), están disponibles en el comercio, se conocen en la bibliografía, o se pueden preparar usando técnicas conocidas para los expertos en la técnica.

Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (IV)



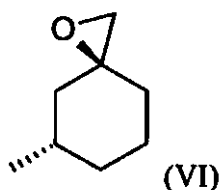
10 en la que X² representa un grupo saliente (por ejemplo halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) e Y¹ representa un grupo saliente adecuado (por ejemplo hidroxilo o cloro) con (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metil-ciclohexanol (Compuesto (V)).



15 En la reacción de (IV) y (V), en la que Y¹ representa un radical de cloro, la reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un disolvente orgánico tal como acetona, diclorometano, N,N-dimetilformamida o 1-metil-2-pirrolidinona, con una base adecuada tal como carbonato potásico, diisopropilamina o trietilamina. Cuando Y¹ representa un grupo hidroxilo, puede ser necesario o deseable usar un agente de acoplamiento, tal como hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidino-fosfonio (PyBroP), 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDCI) o tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU). Si Y¹ es un radical de cloro, tales compuestos se pueden preparar convenientemente mediante tratamiento del derivado de ácido carboxílico correspondiente en condiciones estándar (tales como cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo en diclorometano).

20 El compuesto de fórmula (V) es un compuesto nuevo y forma un aspecto adicional de la presente invención. En consecuencia, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un compuesto que es (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol, o una sal del mismo. En una realización de este aspecto, el compuesto (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol es ópticamente puro (definiéndose ópticamente puro como para los compuestos ópticamente puros de fórmula (I)). Las sales de (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol incluyen sales de adición de ácidos, tales como un hidrocloreto o hidrobromuro.

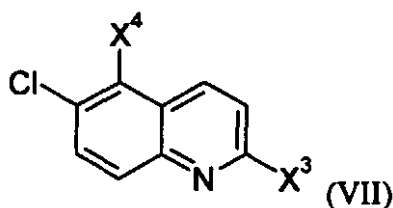
30 (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol (V) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VI) con un equivalente de amoníaco protegido adecuado, tal como ftalimida (seguido de tratamiento con hidrazina), imidodicarbonato de di-*tert*-butilo (seguido de tratamiento con un ácido, por ejemplo, cloruro de hidrógeno), bencilaminas, por ejemplo 4-metoxibencilamina (seguido del tratamiento con 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ), o, como alternativa, bencilamina, N-bencil-1-metanamina o 1,1-difenilmetanamina (seguido de la desprotección con hidrógeno en presencia de un catalizador metálico adecuado).



35 La reacción entre el compuesto de fórmula (VI) y una bencilamina se puede llevar a cabo convenientemente en disolventes próticos tales como metanol o etanol (opcionalmente como sistemas de disolventes mixtos con tolueno),

o disolventes apróticos tales como acetonitrilo, tetrahidrofurano o *N,N*-dimetilformamida, a una temperatura en el intervalo de 25°C a 140°C, en particular a 65°C a 100°C, ya sea en un microondas o en condiciones térmicas convencionales. La eliminación subsiguiente del grupo protector de bencilo se puede llevar a cabo convenientemente en condiciones de hidrogenolisis en un disolvente prótico tal como metanol, etanol o ácido acético, o disolventes apróticos tales como acetato de etilo, a una temperatura en el intervalo de 25°C a 100°C, preferiblemente a 25°C, en una atmósfera de hidrógeno a 1 a 5 bares, preferiblemente a 4 bares, en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono, óxido de platino o rodio sobre carbono, preferiblemente paladio sobre carbono. El compuesto (VI) es conocido en la bibliografía (Alexakis, A. et al., Synlett 2001, No. 9, 1375). En los ejemplos posteriores se da un ejemplo detallado de la preparación de (1*S*,3*S*)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol.

- 10 Los compuestos de fórmula (IV) en los que X² representa un grupo saliente (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) e Y¹ representa hidroxilo se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula (VII)



- 15 en la que X³ representa un grupo saliente (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) y X⁴ representa un radical de yodo o bromo.

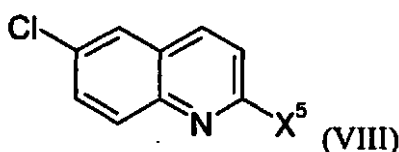
En la conversión de (VII) a (IV), la reacción se puede llevar a cabo convenientemente mediante intercambio de metal/halógeno, seguido de una paralización electrófila con dióxido de carbono. La reacción se puede llevar a cabo en un disolvente orgánico, tal como tetrahidrofurano, éter dietílico, diglima o hexano, con un reactivo organometálico tal como butil-litio, *sec*-butil-litio, *terc*-butil-litio o cloruro de isopropilmagnesio, a una temperatura en el intervalo de -78°C a 25°C (por ejemplo 25°C para el intercambio de metal/halógeno y 0°C para la reacción con dióxido de carbono).

(VII) también se puede convertir en (IV) haciendo reaccionar en condiciones de carbonilación en agua como disolvente, a una temperatura de 25°C a 120°C, en una atmósfera de monóxido de carbono de 1 a 8 bares en presencia de un catalizador metálico (*por ejemplo*, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocendicloro paladio (II) o 1,1'-bis(di-*terc*-butilfosfino)ferrocendicloro paladio (II) (Pd-118)) en presencia de una base amínica (*por ejemplo* trietilamina o diisopropiletilamina).

Los compuestos de fórmula (II) en los que X¹ representa un grupo saliente adecuado (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) se pueden preparar a partir de los compuestos de fórmula (VII) en los que X³ representa un grupo saliente (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) y X⁴ representa un radical de yodo o bromo.

En la conversión de (VII) a (II), la reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un disolvente orgánico, tal como *N*-dimetilpirrolidina, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, tetrahidrofurano o acetonitrilo, en presencia de una amina (V) a una temperatura de 25°C a 120°C, en una atmósfera de monóxido de carbono de 1 a 8 bares, en presencia de un catalizador metálico (*por ejemplo*, 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocendicloro paladio (II) o 1,1'-bis(di-*terc*-butilfosfino)ferrocendicloro paladio (II) (Pd-118)) y en presencia de una base amínica (*por ejemplo* trietilamina o diisopropiletilamina).

Los compuestos de fórmula (VII) en los que X³ representa un grupo saliente (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato) y X⁴ representa un radical de yodo o bromo se pueden preparar a partir de un compuesto de fórmula (VIII)



40 en la que X⁵ representa un grupo saliente (*por ejemplo* halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato o trifluorometanosulfonato).

En la conversión de (VIII) a (VII), en el que X³ representa un radical de yodo, la reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un ácido tal como ácido sulfúrico fumante o ácido tríflico en presencia de una fuente de yodo

tal como yodo (I_2), *N*-yodosuccinimida (NIS) o yoduro de plata (AgI), en presencia o ausencia de una sal metálica (por ejemplo trifluorometanosulfonato de plata o sulfato de plata).

5 Los compuestos de fórmula (VIII) están comercialmente disponibles, son conocidos en la bibliografía, o se pueden preparar usando técnicas conocidas por aquellos expertos en la técnica. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (VIII) en el que X^5 es un radical de cloro es conocido en la bibliografía (Inglis, S.R., et al., J. Med. Chem., 2004, 47, 5405).

El compuesto de fórmula (VII), en el que X^3 es un radical de cloro y X^4 es un radical de yodo, es un compuesto nuevo, y forma un aspecto adicional de la presente invención. En consecuencia, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un compuesto que es 2,6-dicloro-5-yodoquinolina.

10 Los compuestos de fórmula (II) son compuestos nuevos, y forman un aspecto adicional de la presente invención. Una realización de la invención proporciona compuestos de fórmula (II) en los que X^1 se selecciona de halógeno, paratoluenosulfonato, metanosulfonato y trifluorometanosulfonato.

Otra realización de la invención proporciona un compuesto de fórmula (II) en el que X^1 es un radical de cloro. En consecuencia, un aspecto adicional de la presente invención proporciona un compuesto que es 2,6-dicloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}quinolin-5-carboxamida.

15 Los expertos en la técnica apreciarán que en los procedimientos de la presente invención puede ser necesario proteger algunos grupos funcionales tales como grupos hidroxilo, carboxilo o amino en los reactivos o compuestos intermedios, con grupos protectores. De este modo, la preparación de los compuestos de fórmula (I) puede implicar en una determinada etapa la protección con y/o eliminación de uno o más grupos protectores. La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edición, T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1991), y "Protecting Groups", P.J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994). Los compuestos de fórmula (I) anteriores se pueden convertir en una sal farmacéuticamente aceptable usando métodos convencionales.

20

25 Los compuestos de la presente invención tienen potencia, selectividad y/o propiedades farmacocinéticas beneficiosas. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención tienen baja afinidad por el canal de potasio codificado por el gen humano relacionado con el gen éter-a-go-go (hERG). A este respecto, los fármacos que interaccionan con el canal de potasio codificado por hERG, y por consiguiente el restablecimiento del potencial celular negativo por eflujo de K^+ , pueden producir una prolongación del intervalo QT, conduciendo a un síndrome de QT prolongado adquirido (LQT) [M. C. Sanguinetti, C Jiang, M. E. Curran, M. T. Keating, Cell 1995, 81, 299-307; y K. Finlayson et al., Eur. J. Pharm. 2004, 500, 129-142]. Esto, en consecuencia, puede inducir una arritmia potencialmente mortal, conocida como tquicardia ventricular polimorfa en entorchado (torsade de points) (TdP) [W. Haferkamp et al., Eur. Heart J. 2000, 21, 1216-1331]. Por lo tanto, las nuevas entidades químicas, si no están destinadas al uso cardiovascular, que carezcan de efectos en los canales cardiacos, y en particular en el canal de hERG, proporcionarán un perfil de seguridad mejorado y por lo tanto tendrán una ventaja terapéutica y reguladora frente a fármacos con efectos prolongadores del QT. Kiss et al (Assay Drug Dev. Technol. 2003, 1,127-135) describen un método para ensayar la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de canales iónicos tal como hERG. Springthorpe y Strandlund (documento WO 2005037052) describen un método para ensayar la capacidad de los compuestos para unirse a los canales de potasio IKr (hERG).

30

35

Los compuestos de acuerdo con la presente invención también presentan una buena biodisponibilidad, según se determina mediante parámetros farmacocinéticos. Por ejemplo, los compuestos de acuerdo con la presente invención también presentan una unión baja a proteínas plasmáticas. El compuesto de acuerdo con la presente invención también presenta una actividad baja en un cribado de fosfolipidosis *in vitro*.

40

Un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, puede ser beneficioso en el tratamiento de:

45 1. aparato respiratorio: enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, incluyendo: asma, que incluye asma bronquial, alérgica, intrínseca, extrínseca, inducida por el ejercicio, inducida por fármacos (inclusive la inducida por aspirina y por AINEs) e inducida por el polvo, tanto intermitente como persistente y de todas las gravedades, y otras causas de hipersensibilidad de las vías respiratorias; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquitis, incluyendo bronquitis infecciosa y eosinofílica; enfisema; bronquiectasia; fibrosis quística; sarcoidosis; pulmón del granjero y enfermedades relacionadas; neumonitis por hipersensibilidad; fibrosis pulmonar, incluyendo alveolitis fibrosante criptogénica, neumonías intersticiales idiopáticas, fibrosis que complica la terapia antineoplásica e infección crónica, incluyendo tuberculosis y aspergilosis y otras infecciones fúngicas; complicaciones del trasplante pulmonar; vasculitis y trastornos trombóticos de la vasculatura pulmonar, e hipertensión pulmonar; actividad antitumoral, incluyendo el tratamiento de la tos crónica asociada con afecciones inflamatorias y secretoras de las vías respiratorias, y tos yatrogénica; rinitis aguda y crónica, incluyendo rinitis medicamentosa y rinitis vasomotora; rinitis alérgica perenne y estacional, incluyendo la rinitis nerviosa (fiebre del heno); poliposis nasal; infección vírica aguda, incluyendo el resfriado común y la infección debida a virus respiratorio sincitial, de la gripe, coronavirus (incluyendo SARS) y adenovirus;

50

55

2. huesos y articulaciones: artritis asociada con o que incluye osteoartritis/osteoartrosis, tanto primarias como secundarias a, por ejemplo, displasia de cadera congénita; espondilitis cervical y lumbar, y lumbalgia y dolor de cuello; artritis reumatoide y enfermedad de Still; espondiloartropatías seronegativas, incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriásica, artritis reactiva y espondiloartropatía no diferenciada; artritis séptica y otras artropatías relacionadas con infección y enfermedades óseas tales como tuberculosis, incluyendo enfermedad de Pott y síndrome de Poncet; sinovitis inducida por cristales aguda y crónica, incluyendo gota por urato, enfermedad por depósito de pirofosfato cálcico, e inflamación de tendón, bursitis y sinovial relacionada con apatito cálcico; enfermedad de Behcet; síndrome de Sjorgen primario y secundario; esclerosis sistémica y esclerodermia limitada; lupus eritematoso sistémico, enfermedad de tejido conjuntivo mixto y enfermedad de tejido conjuntivo no diferenciado; miopatías inflamatorias, incluyendo dermatomiositis y poliomiositis; polimialgia reumática; artritis juvenil, incluyendo artritis inflamatorias idiopáticas de cualquier distribución articular y síndromes asociados, y fiebre reumática y sus complicaciones sistémicas; vasculitis, incluyendo arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, síndrome de Churg-Strauss, poliartrosis nodosa, poliartrosis microscópica, y vasculitis asociada con infección vírica, reacciones de hipersensibilidad, crioglobulinas y paraproteínas; lumbalgia; fiebre mediterránea familiar; síndrome de Muckle-Wells, y fiebre familiar de Hibernia, enfermedad de Kikuchi; artralgiias inducidas por fármacos, tendinitis y miopatías;
3. dolor y remodelación del tejido conjuntivo de trastornos musculoesqueléticos debidos a lesión (por ejemplo lesión deportiva) o enfermedad: artritis (por ejemplo artritis reumatoide, osteoartritis, artropatía por gota o cristales), otras enfermedades de articulaciones (tales como degeneración de discos intervertebrales o degeneración de la articulación temporomandibular), enfermedad de remodelación ósea (tal como osteoporosis, enfermedad de Paget o osteonecrosis), policondritis, esclerodermia, trastornos del tejido conjuntivo mixto, espondiloartropatías o enfermedad periodontal (tal como periodontitis);
4. piel: psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto u otras dermatosis eccematosas, y reacciones de hipersensibilidad retardada; fito- y fotodermatitis; dermatitis seborreica, dermatitis herpetiforme, liquen plano, liquen escleroso y atrófico, piodermia gangrenosa, sarcoidosis cutánea, lupus eritematoso discoide, pénfigo, penfigoide, epidermolisis ampollosa, urticaria, angioedema, vasculitis, eritemas tóxicos, eosinofilia cutáneas, alopecia areata, calvicie de patrón masculino, síndrome de Sweet, síndrome de Weber-Christian, eritema multiforme; celulitis, tanto infecciosa como no infecciosa; paniculitis; linfomas cutáneos, cáncer de piel no melánico y otras lesiones displásicas; trastornos inducidos por fármacos, incluyendo erupciones fijas por fármacos;
5. ojos: blefaritis, conjuntivitis, incluyendo conjuntivitis alérgica perenne y primaveral; iritis; uveítis anterior y posterior; coroiditis; trastornos autoinmunitarios, degenerativos o inflamatorios que afectan a la retina; oftalmitis, incluyendo oftalmitis simpática; sarcoidosis; infecciones, incluyendo víricas, fungicas y bacterianas;
6. aparato digestivo: glositis, gingivitis, periodontitis; esofagitis, incluyendo reflujo; gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis, incluyendo colitis ulcerosa, proctitis, prurito anal; celiacía, síndrome del intestino irritable, y alergias relacionadas con alimentos que pueden tener efectos distantes del intestino (por ejemplo, migraña, rinitis o eccema);
7. abdominal: hepatitis, incluyendo autoinmunitaria, alcoholica y vírica; fibrosis y cirrosis hepática; colecistitis; pancreatitis, tanto aguda como crónica;
8. genitourinario: nefritis incluyendo intersticial y glomerulonefritis; síndrome nefrótico; cistitis, incluyendo cistitis aguda y crónica (intersticial) y úlcera de Hunner; uretritis aguda y crónica, prostatitis, epididimitis, ooforitis y salpingitis; vulvovaginitis; enfermedad de Peyronie; disfunción eréctil (tanto masculina como femenina);
9. rechazo de aloinjerto: agudo y crónico después tras, por ejemplo, trasplante de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, piel o córnea, o después de una transfusión de sangre; o enfermedad crónica de injerto contra huesped;
10. SNC: enfermedad de Alzheimer y otras demencias como la ECJ y la nVECJ; amiloidosis; esclerosis múltiple y otros síndromes desmielinizantes; aterosclerosis cerebral y vasculitis; arteritis temporal; miastenia grave; dolor agudo y crónico (agudo, intermitente o persistente, ya sea de origen central o periférico), incluyendo dolor visceral, dolor de cabeza, migraña, neuralgia del trigémino, dolor facial atípico, dolor articular y óseo, dolor que se origina en el cáncer y la invasión tumoral, síndromes de dolor neuropático incluyendo neuropatías diabética, post-herpética y asociadas al VIH; neurosarcoidosis; complicaciones del sistema nervioso central y periférico de procesos malignos, infecciosos o autoinmunitarios;
11. otros trastornos autoinmunitarios y alérgicos, incluyendo tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, puúrpura trombocitopénica idiopática, fascitis eosinofílica, síndrome de hiper-IgE, síndrome antifosfolípídico;
12. otros trastornos con un componente inflamatorio o inmunológico; incluyendo el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), lepra, síndrome de Sezary, y síndromes paraneoplásicos;

- 5 13. cardiovascular: aterosclerosis, que afecta a la circulación coronaria y periférica; pericarditis; miocarditis, miocardiopatías inflamatorias y autoinmunitarias, incluyendo sarcoidosis del miocardio; lesiones por isquemia y reperfusión; endocarditis, valvulitis y aortitis, incluyendo infecciosa (por ejemplo, sífilítica); vasculitis; trastornos de las venas proximales y periféricas, incluyendo flebitis y trombosis, incluyendo trombosis venosa profunda y complicaciones de las varices;
- 10 14. oncológica: tratamiento de cánceres comunes, incluyendo tumores de próstata, mama, pulmón, ovario, páncreas, intestino y colon, estómago, piel y cerebro, y tumores malignos que afectan a la médula ósea (incluyendo las leucemias) y sistemas linfoproliferativos, tales como el linfoma de Hodgkin y no de Hodgkin; incluyendo la prevención y el tratamiento de las recurrencias de la enfermedad metastásica y tumores, y síndromes paraneoplásicos; y,
- 15 15. aparato digestivo: celiacía, proctitis, gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis indeterminada, trastorno del intestino irritable, síndrome del intestino irritable, diarrea no inflamatoria, alergias relacionadas con alimentos que tienen efectos distantes del intestino, por ejemplo, migraña, rinitis y eccema.
- 15 Por consiguiente, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, para uso en terapia.
- En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en terapia.
- 20 En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "terapia" también incluye "profilaxis", salvo que se indique específicamente lo contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" deben interpretarse en consecuencia.
- En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, para el tratamiento de artritis reumatoide.
- 25 En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, para el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino.
- En otro aspecto, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, para el tratamiento de enfermedad de Crohn.
- 30 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de artritis reumatoide.
- En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- 35 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino.
- En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente, en la fabricación de un medicamento para uso en el
- 40 tratamiento de enfermedad de Crohn.
- La invención también proporciona un método para tratar la artritis reumatoide, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente.
- 45 La invención también proporciona un método para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente.
- La invención también proporciona un método para tratar la enfermedad de Crohn, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente.
- 50 La invención también proporciona un método para tratar una enfermedad obstructiva de las vías respiratorias (por ejemplo asma o EPOC), que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como se define anteriormente.

A fin de usar un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para el tratamiento terapéutico de un animal de sangre caliente, tal como el hombre, dicho ingrediente normalmente se formula de acuerdo con la práctica farmacéutica habitual, en forma de una composición farmacéutica.

5 Por lo tanto, en otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables (principio activo), y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar dicha composición, que comprende mezclar el principio activo con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá, por ejemplo, de 0,05 a 99% en peso (porcentaje en peso), tal como de 0,05 a 80% en peso, por ejemplo de 0,10 a 70% en peso, tal como de 0,10 a 50% en peso, del principio activo, basándose todos los porcentajes en peso en la composición total.

15 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar de una forma estándar para el estado patológico que se desea tratar, por ejemplo por administración tópica (tal como al pulmón y/o vías respiratorias o a la piel), oral, rectal o parenteral. Para estos fines, los compuestos de esta invención se pueden formular por medios conocidos en la técnica en forma, por ejemplo, de aerosoles, formulaciones de polvo seco, comprimidos, capsulas, jarabes, polvos, gránulos, disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones (lípidos), polvos dispersables, supositorios, pomadas, cremas, gotas y disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas inyectables estériles.

20 Una composición farmacéutica adecuada de esta invención es una adecuada para la administración oral en forma de dosificación unitaria, por ejemplo un comprimido o capsula que contiene entre 0,1 mg y 1 g de principio activo.

25 En otro aspecto, una composición farmacéutica de la invención es una adecuada para inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular. Cada paciente puede recibir, por ejemplo, una dosis intravenosa, subcutánea o intramuscular de $0,01 \text{ mg.kg}^{-1}$ a 100 mg.kg^{-1} del compuesto, por ejemplo en el intervalo de $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ a 20 mg.kg^{-1} , administrándose la composición de 1 a 4 veces al día. La dosis intravenosa, subcutánea e intramuscular puede darse en forma de una inyección de bolo. Alternativamente, la dosis intravenosa se puede dar por una infusión continua a lo largo de un periodo de tiempo. Alternativamente, cada paciente recibirá una dosis oral diaria que es aproximadamente equivalente a la dosis parenteral diaria, administrándose la composición de 1 a 4 veces al día.

30 La invención se refiere además a terapias de combinación, en las que un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, o una composición o formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, se administra de forma simultánea o secuencial, o como una preparación combinada con otro agente o agentes terapéuticos, para el tratamiento de una o mas de las afecciones listadas.

35 En particular, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como (pero sin restringirse a) artritis reumatoide, osteoartritis, asma, rinitis alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), psoriasis y enfermedad inflamatoria del intestino, los compuestos de la invención se pueden combinar con los agentes listados a continuación.

40 Agentes antiinflamatorios no esteroideos (en lo sucesivo AINEs), incluyendo inhibidores no selectivos de ciclooxigenasas COX-1 / COX-2, ya sea que se apliquen tópica o sistémicamente (tales como piroxicam, diclofenaco, ácidos propiónicos tales como naproxeno, flurbiprofeno, fenoprofeno, ketoprofeno e ibuprofeno, fenamatos tales como ácido mefenámico, indometacina, sulindaco, azapropazona, pirazolonas tales como fenilbutazona, salicilatos tales como aspirina); inhibidores selectivos de COX-2 (tales como meloxicam, celecoxib, rofecoxib, valdecoxib, lumarocoxib, parecoxib y etoricoxib); dadores de óxido nítrico que inhiben la ciclooxigenasa (CINODs); glucocorticosteroides (ya sea que se administren por vía tópica, oral, intramuscular, intravenosa o intraarticular); metotrexato; leflunomida; hidroxicloroquina; d-penicilamina; auranofina u otras preparaciones de oro parenterales u orales; analgésicos; diacereína; terapias intraarticulares tales como derivados del ácido hialurónico; y suplementos nutricionales tales como glucosamina. Dadores de óxido nítrico que inhiben la ciclooxigenasa (CINODs); glucocorticosteroides (ya sea que se administren por vía tópica, oral, intramuscular, intravenosa o intraarticular); metotrexato; leflunomida; hidroxicloroquina; d-penicilamina; auranofina u otras preparaciones de oro parenterales u orales; analgésicos; diacereína; terapias intraarticulares tales como derivados del ácido hialurónico; y suplementos nutricionales tales como glucosamina.

50 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con una citocina o agonista o antagonista de la función de citocina (incluyendo agentes que actúan en las rutas de señalización de citocinas, tales como moduladores del sistema SOCS), incluyendo alfa-, beta- y gamma-interferones; factor de crecimiento de tipo 1 similar a insulina (IGF-1); interleucinas (IL), incluyendo IL1 a 17, y antagonistas e inhibidores de interleucinas, tales como anakinra; inhibidores del factor alfa de necrosis tumoral (TNF- α), tales como anticuerpos monoclonales anti-TNF (por ejemplo infliximab; adalimumab, y CDP-870) y agonistas del receptor de TNF, incluyendo moléculas inmunoglobulínicas (tales como etanercept) y agentes de bajo peso molecular, tales como pentoxifilina. Además, la invención se refiere a una combinación de un compuesto de la invención con un anticuerpo monoclonal dirigido a linfocitos B (tales como CD20 (rituximab), MRA-aIL16R y linfocitos T, CTLA4-Ig, HuMax Il-15).

- 5 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con un modulador de la función de los receptores de quimiocinas, tales como un antagonista de CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 y CCR11 (para la familia C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 y CXCR5 (para la familia C-X-C), y CX₃CR1 para la familia C-X₃-C.
- 10 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con un inhibidor de metaloproteasas de la matriz (MMPs), es decir, las estromelinas, las colagenasas y las gelatinasas, así como agrecanasa; en especial colagenasa-1 (MMP-1), colagenasa-2 (MMP-8), colagenasa-3 (MMP-13), estromelina-1 (MMP-3), estromelina-2 (MMP-10), y estromelina-3 (MMP-11) y MMP-9 y MMP-12, incluyendo agentes tales como doxiciclina.
- 15 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un inhibidor de la biosíntesis de leucotrienos, inhibidor de 5-lipooxigenasa (5-LO) o antagonista de la proteína activadora de la 5-lipooxigenasa (FLAP) tales como zileuton; ABT-761; fenleuton; tepoxalina; Abbott-79175; Abbott-85761; una N-(5-sustituido)-tiofen-2-alkilsulfonamida; 2,6-di-terc-butilfenolhidrazonas; metoxitetrahidropiranos tales como Zeneca ZD-2138; el compuesto SB-210661; un compuesto de 2-cianoftaleno sustituido con piridinilo, tal como L-739.010; un compuesto de 2-cianoquinolina tal como L-746.530; o un compuesto de indol o quinolina tal como MK-591, MK-886, y BAY x 1005.
- 20 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un antagonista del receptor para leucotrienos (LT) B₄, LTC₄, LTD₄ y LTE₄ seleccionado del grupo que consiste en fenotiazina-3-1s tal como L-651.392; compuestos de amidino tales como CGS-25019c; benzoxalaminas tales como ontazolast; bencenocarboximidamidas tales como BIIL 284/260; y compuestos tales como zafirlukast, ablukast, montelukast, pranlukast, verlukast (MK-679), RG-12525, Ro-245913, iralukast (CGP 45715A), y BAY x 7195.
- 25 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE) tal como una metilxantina, incluyendo teofilina y aminofilina; un inhibidor selectivo de isoenzimas de PDE, incluyendo un inhibidor de PDE₄, un inhibidor de la isoforma PDE_{4D} o un inhibidor de PDE₅.
- 30 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un antagonista del receptor de histamina de tipo 1, tales como cetirizina, loratadina, desloratadina, fexofenadina, acrivastina, terfenadina, astemizol, azelastina, levocabastina, clorfeniramina, prometazina, ciclizina o mizolastina; aplicado por vía oral, tópica o parenteral.
- 35 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un inhibidor de la bomba de protones (tales como omeprazol) o un antagonista del receptor de histamina de tipo 2 gastroprotector.
- 40 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un antagonista del receptor de histamina de tipo 4.
- 45 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agente simpaticomimético vasoconstrictor agonista del adrenergico alfa-1/alfa-2, tales como propilhexedrina, fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina, pseudoefedrina, hidrocloreto de nafazolina, hidrocloreto de oximetazolina, hidrocloreto de tetrahidrozolina, hidrocloreto de xilometazolina, hidrocloreto de tramazolina o hidrocloreto de etilnorepinefrina.
- 50 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agente anticolinérgico, incluyendo antagonista del receptor muscarínico (M₁, M₂ y M₃) tales como atropina, hioscina, glicopirrolato, bromuro de ipratropio, bromuro de tiotropio, bromuro de oxitropio, pirenzepina o telenzepina.
- La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agonista de beta-adrenorreceptores (incluyendo receptores beta de subtipos 1-4), tales como isoprenalina, salbutamol, formoterol, salmeterol, terbutalina, orciprenalina, mesilato de bitolterol o pirbuterol, o uno de sus enantiómeros quirales.
- La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con un glucocorticoide, tal como flunisolida, acetónido de triamcinolona, dipropionato de beclometasona, budesonida, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona.

La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, con un agente que modula un receptor de hormona nuclear tal como PPARs.

5 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con una inmunoglobulina (Ig) o preparación de Ig o un antagonista o anticuerpo que modula la función de Ig tal como anti-IgE (por ejemplo omalizumab).

La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y otro agente antiinflamatorio sistémico o aplicado por vía tópica, tales como talidomida o un derivado de la misma, un retinoide, ditranol o calcipotriol.

10 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y combinaciones de aminosalicilatos y sulfapiridina tales como sulfasalazina, mesalazina, balsalazida y olsalazina; y agentes inmunomoduladores tales como tiopurinas, y corticosteroides tales como budesonida.

15 L La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con un agente antibacteriano tal como un derivado de penicilina, una tetraciclina, un macrólido, una beta-lactama, una fluoroquinolona, metronidazol, un aminoglucósido inhalado; un agente antivírico incluyendo aciclovir, famciclovir, valaciclovir, ganciclovir, cidofovir, amantadina, rimantadina, ribavirina, zanamavir y oseltamavir; un inhibidor de proteasa, tal como indinavir, nelfinavir, ritonavir y saquinavir; un inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa, tal como didanosina, lamivudina, estavudina, zalcitabina o zidovudina; o un inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa, tal como nevirapina o efavirenz.

20 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agente cardiovascular tal como un bloqueador del canal de calcio, un bloqueador de beta-adrenorreceptores, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), un antagonista del receptor de angiotensina-2; un agente reductor de lípidos, tal como una estatina o un fibrato; un modulador de la morfología de los glóbulos rojos, tal como pentoxifilina; trombolítico, o un anticoagulante tal como un inhibidor de la agregación de plaquetas.

25 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agente del SNC tal como un antidepresivo (tal como sertralina), un fármaco antiparkinsoniano (tal como deprenilo, L-dopa, ropinirol, pramipexol, un inhibidor de MAO-B tal como selegina y rasagilina, un inhibidor de comP tal como tasmar, un inhibidor de A-2, un inhibidor de la recaptación de dopamina, un antagonista de NMDA, un agonista de nicotina, un agonista de dopamina o un inhibidor de la óxido nítrico sintasa neuronal), o un fármaco contra el alzheimer, tal como donepezilo, rivastigmina, tacrina, un inhibidor de la COX-2, propentofilina o metrifonato.

30 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y un agente para el tratamiento del dolor agudo o crónico, tal como un analgésico de acción central o periférica (por ejemplo un opiáceo o derivado del mismo), carbamazepina, fenitoína, valproato sódico, amitriptilina u otros agentes antidepresivos, paracetamol, o un agente antiinflamatorio no esteroideo.

35 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con un agente anestésico local aplicado por vía parenteral o tópica (incluyendo inhalado), tal como lignocaina o un derivado del mismo.

Un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, también se puede usar en combinación con un agente contra la osteoporosis, incluyendo un agente hormonal tal como raloxefina, o un bifosfonato tal como alendronato.

40 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, junto con un: (i) inhibidor de triptasa; (ii) antagonista del factor activante de plaquetas (PAF); (iii) inhibidor de la enzima convertidora de interleucina (ICE); (iv) inhibidor de IMPDH; (v) inhibidores de moléculas de adhesión, incluyendo antagonista de VLA-4; (vi) catepsina; (vii) inhibidor de cinasa tal como un inhibidor de tirosina cinasa (tal como Btk, Itk, Jak3 o MAP, por ejemplo Gefitinib o mesilato de Imatinib), una serina / treonina cinasa (tal como un inhibidor de una MAP cinasa tal como p38, JNK, proteína cinasa A, B o C, o IKK), o una cinasa implicada en la regulación del ciclo celular (tal como una cinasa dependiente de ciclina); (viii) inhibidor de glucosa-6 fosfato deshidrogenasa; (ix) antagonista de receptores de cinina B1 o B2; (x) agente contra la gota, por ejemplo colchicina; (xi) inhibidor de la xantina oxidasa, por ejemplo alopurinol; (xii) agente uricosúrico, por ejemplo probenecida, sulfipirazona o benzbromarona; (xiii) secretagogo de hormonas del crecimiento; (xiv) factor de crecimiento transformante (TGFβ); (xv) factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); (xvi) factor de crecimiento de fibroblastos, por ejemplo factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF); (xvii) crema de capsaicina; (xviii) antagonista del receptor de taquicinina NK1 o NK3 tal como NKP-608C, SB-233412 (talnetant) o D-4418; (xix) inhibidor de elastasa tal como UT-77 o ZD-0892; (xx) inhibidor de óxido nítrico sintasa inducida (iNOS); (xxi) molécula homóloga de receptores de quimioattractores expresada en células TH2, (tal como un antagonista de

CRTH2); (xxii) inhibidor de P38; (xxiii) agente que modula la función de receptores similares a Toll (TLR), (xxiv) agente que modula la actividad de otro receptor purinérgico; o (xxv) inhibidor de la activación del factor de transcripción tal como NFκB, API, o STATS.

5 Un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, también se puede usar en combinación con un agente terapéutico existente para el tratamiento del cáncer, por ejemplo agentes adecuados incluyen:

10 (i) un fármaco antiproliferativo/antineoplásico o una combinación de los mismos, como se usa en oncológica médica, tal como un agente alquilante (por ejemplo cis-platino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, clorambucilo, busulfano o una nitrosourea); un antimetabolito (por ejemplo un antifolato tal como una fluoropirimidina como 5-fluorouracilo o tegafur, raltitrexed, metotrexato, arabinósido de citosina, hidroxiurea, gemcitabina o paclitaxel); un antibiótico antitumoral (por ejemplo, una antraciclina tal como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarrubicina, mitomicina-C, dactinomicina o mitramicina); un agente antimitótico (por ejemplo un alcaloide de la vinca tal como vincristina, vinblastina, vindesina o vinorelbina, o un taxoide tal como taxol o taxotere); o un inhibidor de topoisomerasa (por ejemplo una epipodofilotoxina tal como etopósido, tenipósido, amsacrina, topotecán o una camptotecina);

20 (ii) un agente citostático tal como antiestrógeno (por ejemplo, tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno o yodoxifeno), un reductor de receptor de estrógenos (por ejemplo fulvestrant), un antiandrógeno (por ejemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida o acetato de ciproterona), un antagonista de LHRH o un agonista de LHRH (por ejemplo goserelina, leuprorelina o buserelina), un progestágeno (por ejemplo acetato de megestrol), un inhibidor de aromatasa (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol o exemestano) o un inhibidor de 5α-reductasa tal como finasterida;

(iii) un agente que inhibe la invasión de células cancerosas (por ejemplo un inhibidor de metaloproteínasa como marimastat o un inhibidor de la función del receptor activador de plasminógeno uroquinasa);

25 (iv) un inhibidor de la función del factor de crecimiento, por ejemplo: un anticuerpo contra el factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-erbb2 trastuzumab, o el anticuerpo anti-erbb1 cetuximab [C225]), un inhibidor de la farnesil transferasa, un inhibidor de la tirosina cinasa o un inhibidor de la serina/treonina cinasa, un inhibidor de la familia de factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo un inhibidor de la familia de receptores de tirosina cinasa EGFR tal como N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib, AZD1839), N-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (erlotinib, OSI-774) o 6-acrilamido-N-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), un inhibidor de la familia de factores de crecimiento derivados de plaquetas, o un inhibidor de la familia de factores de crecimiento de hepatocitos;

35 (v) un agente antiangiogénico tal como uno que inhibe los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (por ejemplo el anticuerpo contra el factor de crecimiento celular endotelial vascular bevacizumab, un compuesto descrito en los documentos WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 o WO 98/13354), o un compuesto que funciona por otro mecanismo (por ejemplo linomida, un inhibidor de la función de la integrina αvβ3 o una angiostatina);

(vi) un agente de daño vascular tal como combretastatina A4, o un compuesto descrito en los documentos WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 o WO 02/08213;

(vii) un agente usado en la terapia génica antisentido, por ejemplo uno dirigido a una de las dianas listadas anteriormente, tal como ISIS 2503, un anti-ras antisentido;

40 (viii) un agente usado en un enfoque de terapia génica, por ejemplo enfoques para sustituir genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes, enfoques de GDEPT (terapia de profármaco enzimático dirigida a genes) tales como los que usan citosina desaminasa, timidina cinasa o una enzima nitrorreductasa bacteriana, y enfoques para aumentar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o radioterapia, tal como terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; o

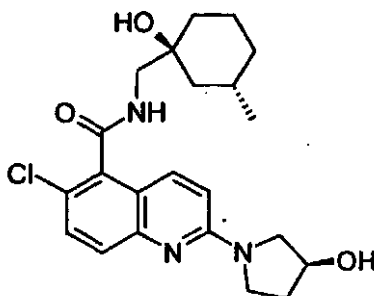
45 (ix) un agente usado en un enfoque inmunoterapéutico, por ejemplo enfoques ex vivo e in vivo para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tal como transfección con citocinas tales como interleucina 2, interleucina 4 o factor estimulante de la colonias de granulocitos y macrófagos, enfoques para reducir la anergia de linfocitos T, enfoques que usan células inmunitarias transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citocinas, enfoques que usan estirpes celulares tumorales transfectadas con citocinas, y enfoques que usan anticuerpos antiidiotípicos.

55 La invención se explicará ahora adicionalmente con referencia a los siguientes ejemplos ilustrativos. En los ejemplos, los espectros de RMN se midieron en un espectrómetro Varian Unit a una frecuencia de protones de 300 ó 400 MHz. Los espectros de MS se midieron en un espectrómetro Agilent 1100 MSD G1946D o un espectrómetro Hewlett Packard HP1100 MSD G1946A. Las separaciones por HPLC preparativa se llevaron a cabo usando una columna Waters Symmetry® o Xterra® usando como eluyente ácido trifluoroacético acuoso al 0,1% : acetonitrilo, amoníaco acuoso al 0,1% : acetonitrilo o acetato amónico al 0,1% : acetonitrilo. Las reacciones en microondas se

llevaron a cabo en un microondas en modo único CEM Discover. Los compuestos y los compuestos intermedios se nombraron por el programa de nomenclatura IUPAC proporcionado por ACD Labs, Toronto, Canadá.

Ejemplo 1

6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3*S*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida



5

a) (3*S*,5*S*)-5-Metil-1-oxaespiro[2,5]octano

El compuesto del subtítulo se preparó según el procedimiento bibliográfico (Weijers, C.A.G.M. et al., JOC. 2005, 70, 6639-6646), haciendo reaccionar una disolución de *tert*-butóxido de potasio (7,84 g) en dimetilsulfóxido (200 ml), con una mezcla de (3*S*)-3-metilciclohexanona (4,0 g, >98% ee)(Alexakis, A. et al., Synlett 2001, nº 9, 1375 e Hiemstra, H y Wynberg, H., Tetrahedron Lett., 1977, 2183) y yoduro de trimetilsulfoxonio (15,4 g) en dimetilsulfóxido (100 ml), para producir el compuesto del subtítulo (3,5 g). RMN ¹H δ_(CDCl₃) 2,62 (2H, m), 1,86-1,56 (5H, m), 1,26 (2H, m), 0,99 (1H, m), 0,92 (3H, d), 0,86 (1H, m).

10

b) (1*S*,3*S*)-1-[(Bencilamino)metil]-3-metilciclohexanol

Una disolución metanólica (1 ml) de bencilamina (5,9 g) y (3*S*,5*S*)-5-metil-1-oxaespiro[2,5]octano (3,5 g) se calentó en un microondas (100W) durante 30 minutos a 100°C, después se concentró *a vacío* y se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, 20% de acetato de etilo/iso-hexano como eluyente) para producir el compuesto del subtítulo como un aceite incoloro (4,5 g). m/z 234 (M+H, 100%).

15

c) (1*S*,3*S*)-1-(Aminometil)-3-metilciclohexanol. HCl

Una mezcla de (1*S*,3*S*)-1-[(bencilamino)metil]-3-metilciclohexanol (4,5 g) y paladio al 5% sobre carbón (500 mg) en metanol (40 ml) se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno de 4 bares durante 72 horas. La reacción se filtró a través de celita, se lavó con metanol (2x), y se concentró *a vacío* para producir (1*S*,3*S*)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol como un aceite incoloro (2,5 g).

20

RMN ¹H δ_(CDCl₃) 2,53 (2H, d), 1,50-1,90 (6H, cm), 1,06 (2H, m), 0,87 (3H, d) y 0,81 (2H, m).

25

(1*S*,3*S*)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol se convirtió fácilmente en el compuesto del subtítulo mediante tratamiento como una disolución en éter dietílico con 1 equivalente de molar de HCl 4M en 1,4-dioxano.

d) 2,6-Dicloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}quinolin-5-carboxamida

A una suspensión agitada de ácido 2,6-dicloro-quinolin-5-carboxílico (2,40 g) (documento WO2004/106305, Ejemplo 76, etapa b) en diclorometano (100 ml) se añadió cloruro de oxalilo (3,15 g, 2,16 ml) y una gota de *N,N*-dimetilformamida. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas antes de que los volátiles se eliminaran *a vacío*, y el residuo se diluyó en diclorometano (100 ml). A esta disolución se añadieron (1*S*,3*S*)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol.HCl (1,78 g) y diisopropiletamina (6,70 ml), y la reacción se agitó durante 20 horas antes de lavarla con agua. La capa orgánica se secó (MgSO₄), se filtró, y los volátiles se evaporaron para proporcionar un sólido bruto. El material se recristalizó en tolueno para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido beige (2,5 g). RMN ¹H δ_(CDCl₃) 8,24 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,71 (1H, t), 7,46 (1H, d), 6,34 (1H, s), 3,56 (2H, d), 1,82-1,52 (7H, m), 1,35 (1H, td), 1,07 (1H, t), 0,93 (3H, d), 0,88 (1H, dd).

30

35

e) 6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3*S*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida

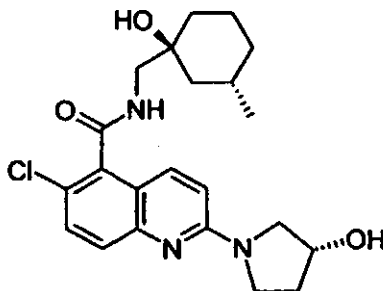
Se añadió (S)-3-hidroxi-pirrolidina (80 mg) a una suspensión del producto de la etapa d) (0,2 g) y diisopropiletamina (300 μl) en acetonitrilo (3 ml). La mezcla de reacción se calentó en un microondas (100W) durante 30 minutos a 120°C antes de concentrarla *a vacío*. Se añadió agua (15 ml), y la suspensión se sometió a ultrasonidos durante 10 minutos. El sólido se filtró y se secó *a vacío* toda la noche para producir el compuesto del título como un sólido de color crema (180 mg). P.f. 222°C (acetonitrilo). m/z 418 (M+H, 100%), 416 (M-H, 100%)

40

RMN ^1H $\delta_{(\text{DMSO})}$ 8,49 (1H, t), 7,81 (1H, d), 7,54 (1H, d), 7,49 (1H, d), 6,95 (1H, d), 4,99 (1H, d), 4,42 (1H, s), 4,15 (1H, s), 3,59 (3H, m), 3,47 (1H, s), 3,28 (2H, d), 2,04 (1H, m), 1,92 (1H, m), 1,73 (1H, m), 1,64-1,41 (5H, m), 1,29 (1H, m), 1,04 (1H, t), 0,84 (3H, d), 0,75 (1H, m).

Ejemplo 2

- 5 6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida

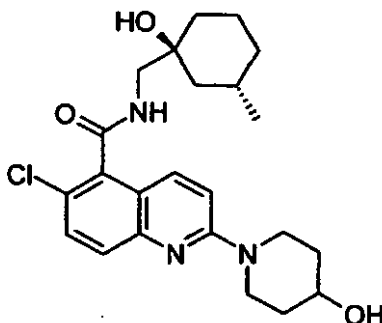


- 10 El compuesto del título se preparó mediante el método del Ejemplo 1, etapa e), haciendo reaccionar (R)-3-hidroxi-pirrolidina (80 mg) (en vez de (S)-3-hidroxi-pirrolidina) con el producto del Ejemplo 1, etapa d) (0,2 g) y diisopropiletamina (300 μl) en acetonitrilo (3 ml), para producir el compuesto del título como un sólido de color crema (190 mg). P.f. 222-223°C (acetonitrilo). m/z 418 (M+H, 100%).

RMN ^1H $\delta_{(\text{CD}_3\text{OD})}$ 7,92 (1H, d), 7,65 (1H, d), 7,49 (1H, d), 6,94 (1H, d), 4,54 (1H, d), 3,69 (3H, m), 3,62 (1H, m), 3,41 (2H, s), 2,15 (1H, m), 2,10 (1H, m), 1,86-1,53 (6H, br. m), 1,40 (1H, m), 1,12 (1H, t), 0,89 (3H, d), 0,85 (1H, q).

Ejemplo 3

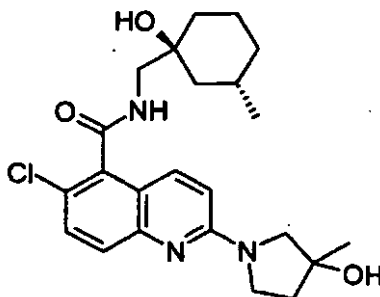
- 6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-(4-hidroxi-piperidin-1-il)quinolin-5-carboxamida



- 15 El compuesto del título se preparó mediante el método del Ejemplo 1, etapa e), haciendo reaccionar piperidin-4-ol (28 mg) (en vez de (S)-3-hidroxi-pirrolidina) con el producto del Ejemplo 1, etapa d) (0,10 g) y diisopropiletamina (0,11 g) en acetonitrilo (2 ml) para producir el compuesto del título como un sólido blanco (99 mg). P.f. 120°C desc.

m/z 432 (M+H, 100%), 430 (M-H, 100%)

- 20 RMN ^1H $\delta_{(\text{DMSO})}$ 8,46 (1H, t), 7,79 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,32 (1H, d), 4,71 (1H, d), 4,18 (2H, m), 4,13 (1H, s), 3,73 (1H, m), 3,37-3,20 (4H, m), 1,84-1,21 (11H, m), 1,02 (1H, t), 0,82 (3H, d), 0,73 (1H, m)

Ejemplo 46-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-(3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)quinolin-5-carboxamida

a) 1-Bencil-3-metilpirrolidin-3-ol

Se añadió gota a gota bromuro de metilmagnesio (4 ml de una disolución 3M en éter dietílico) a una disolución de 1-bencilpirrolidin-3-ona (1,75 g) en tetrahidrofurano (50 ml) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 1 hora antes de que se añadieran agua y éter dietílico, y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), se filtró, y se concentró *a vacío*. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, 5% de metanol/diclorometano como eluyente) para producir el compuesto del subtítulo como un aceite marrón pálido (0,8 g).

RMN ¹H δ_(CDCl₃) 7,34-7,20 (5H, m), 3,63 (2H, s), 3,00-2,92 (1H, m), 2,71 (1H, d), 2,37-2,28 (1H, m), 2,22 (1H, d), 1,92-1,84 (2H, m), 1,33 (3H, s).

b) 3-Metilpirrolidin-3-ol

Una suspensión de paladio al 5% sobre carbón en etanol (1 ml) se añadió a una disolución de 1-bencil-3-metilpirrolidin-3-ol (0,8 g) en metanol (10 ml), y la reacción se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno a 5 bares de presión durante 4 días antes de filtrar a través de celita y lavar con etanol (100 ml). Los volátiles se eliminaron *a vacío* para proporcionar el producto del subtítulo como un aceite amarillo (0,42 g).

RMN ¹H δ_(CDCl₃) 3,18 (1H, m), 2,96 (1H, m), 2,90 (1H, d), 2,68 (1H, d), 1,82 (2H, m), 1,41 (3H, s).

c) 6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-(3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)quinolin-5-carboxamida

El compuesto del título se preparó mediante el método del Ejemplo 1, etapa e), haciendo reaccionar 3-metilpirrolidin-3-ol (0,42 g) (en vez de (S)-3-hidroxipirrolidina) con (1-hidroxi-3-metil-ciclohexilmetil)-amida del ácido 2,6-dicloroquinolin-5-carboxílico (0,10 g) y trietilamina (0,38 ml) (en vez de diisopropiletilamina) en acetonitrilo (1 ml) para producir el compuesto del título bruto y como una mezcla 1:1 de diastereómeros. La reacción se concentró *a vacío*, y los productos se aislaron mediante cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, 4% de metanol/diclorometano como eluyente) como un sólido incoloro (70 mg). Los diastereómeros se separaron mediante cromatografía de fluidos supercrítica (SFC) en una columna OJ Daicel usando 25% de etanol/dióxido de carbono como eluyente para producir el Isómero 1 como un sólido incoloro (18 mg).

P.f. 195-200°C desc.

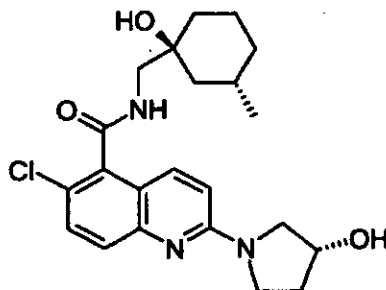
m/z 432 (M+H, 100%),

RMN ¹H δ_(DMSO) 8,48 (1H, t), 7,80 (1H, d), 7,55-7,46 (2H, m), 6,92 (1H, d), 4,82 (1H, s), 4,14 (1H, s), 3,70-3,49 (2H, m), 3,38 (1H, d), 3,27 (1H, d), 2,54-2,46 (2H, m), 1,99-1,42 (8H, m), 1,37 (3H, s), 1,34-1,22 (1H, m), 1,04 (1H, t), 0,84 (3H, d), 0,81-0,68 (1H, m), e Isómero 2 como un sólido incoloro (17 mg), p.f. 200-202°C, m/z 432 (M+H, 100%),

RMN ¹H δ_(DMSO) 8,48 (1H, t), 7,80 (1H, d), 7,54-7,48 (2H, m), 6,83 (1H, d), 4,82 (1H, s), 4,14 (1H, s), 3,70-3,48 (2H, m), 3,38 (1H, d), 3,28 (1H, d), 2,53-2,48 (2H, m), 2,02-1,42 (8H, m), 1,37 (3H, s), 1,33-1,21 (1H, m), 1,04 (1H, t), 0,84 (3H, d), 0,80-0,68 (1H, m).

Ejemplo 5

6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida
(Preparación alternativa al Ejemplo 2)



5 Condiciones generales para el Ejemplo 5: Los espectros de RMN se midieron en un espectrómetro Bruker Avance 360MHz, Bruker Avance 400MHz o Bruker DPX250 250MHz. Las determinaciones estereoquímicas analíticas de HPLC se llevaron a cabo usando columnas ACE 3 Phenyl, 150 x 3 mm y Chirapak AD-H 150 x 4,6 mm, usando elución mediante gradiente de acetato de amonio acuoso al 0,1%:acetronitrilo y elución isocrática de isopropanol:isohexano:trietilamina 19,9:80:0,1, respectivamente.

a) 2,6-Dicloroquinolina

10 Se cargó oxiclورو de fósforo (16,72 kg) en una vasija que contiene 6-cloroquinolin-2(1H)-ona (12,50 kg) (preparada según el método de Johnston K.M. et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1972, 1648 y referencias allí), cloruro de benciltrimetilamonio (1,575 kg) y 1,2-dimetoxietano (87,8 kg) a 70°C. Se cargó 1,2-dimetoxietano (22,5 kg) como una aclaración en línea. La reacción se agitó a 70°C hasta 75°C durante aprox. 6 horas antes de que el lote se concentrara hasta aprox. 44 l mediante destilación a vacío (<40°C). El concentrado se diluyó con diclorometano (253,1 kg), se ajustó a 38°C hasta 45°C, y se paralizó mediante adición de agua (37,5 kg), mientras se mantenía la temperatura a 38°C hasta 45°C. Después de 70 minutos, el lote se enfrió a 25°C hasta 30°C, y se trató con Celite (1,30 kg) durante 40 minutos. La suspensión se filtró a presión vía un filtro de membrana de 1 µm, y los filtrados se diluyeron con diclorometano (87,5 kg). Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con diclorometano (82 kg). Los extractos orgánicos combinados se lavaron secuencialmente con 5% p/p de disolución de hidrogenocarbonato de sodio (37 l), agua (37 kg), y después se concentraron hasta aprox. 75 l a 25°C hasta 40°C. Se cargó isopropanol (96,5 kg), y después el lote se concentró hasta aprox. 75 l a 25°C hasta 40°C. La suspensión resultante se agitó a 16°C hasta 18°C durante 2 horas, y después se filtró. La torta del filtro se lavó con isopropanol (19,7 kg) a aprox. 20°C y después se secó hasta 50°C a vacío para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido blancuzco (12,04 kg). RMN ¹H δ_(DMSO) 8,45 (1H, d), 8,22 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,86 (1H, dd), 7,68 (1H, d).

15

20

25

b) 2,6-Dicloro-5-yodoquinolina

Se cargó 2,6-dicloroquinolina (12,04 kg) a ácido trifluorometanosulfónico (80,6 kg) en aproximadamente diez porciones iguales, de manera que la temperatura se mantuvo a 15°C hasta 25°C. Después se cargó N-yodosuccinimida (13,74 kg) en cinco porciones aproximadamente iguales, de manera que la temperatura se mantuvo a 15°C hasta 25°C. La reacción se agitó a 20°C hasta 25°C durante aprox. 36 horas. La temperatura se ajustó a 15°C hasta 20°C, se diluyó con diclorometano (159,4 kg), se ajustó a 5°C hasta 10°C, y se paralizó mediante adición de agua (96,5 kg), mientras se mantenía la temperatura a 5°C hasta 23°C. La suspensión se aclaró vía un filtro de membrana de 1 µm y se enjuagaron en línea con diclorometano (16,1 kg). Las fases se separaron, y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (48,2 kg). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 5% p/p de disolución de hidrogenocarbonato de sodio (48 l). La fase de hidrogenocarbonato de sodio se volvió a extraer con diclorometano (15,4 kg). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 20% p/p de disolución de tiosulfato de sodio (48 l). La fase de tiosulfato de sodio se volvió a extraer con diclorometano (16,3 kg). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (47 l). La fase acuosa se volvió a extraer con diclorometano (16,4 kg). Los extractos orgánicos combinados se volvieron a cargar en la vasija, se aclararon en línea con diclorometano (31,3 kg), y se concentraron hasta aprox. 48 l a presión atmosférica. Se cargó diclorometano (63 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 48 l a presión atmosférica.

30

35

40

Se cargó diclorometano (66 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 48 l a presión atmosférica. Se cargó diclorometano (63,6 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 48 l a presión atmosférica. Se cargó diclorometano (63,8 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 48 l a presión atmosférica. Se cargó diclorometano (77,8 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 48 l a presión atmosférica. Se cargó acetonitrilo (47,7 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 96 l a presión atmosférica. Se cargó acetonitrilo (46,4 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 96 l a presión atmosférica. El lote se enfrió hasta 18°C a 23°C, se agitó durante 2,5 horas, y después se filtró. La torta del filtro se

45

ES 2 388 454 T3

lavó dos veces con acetonitrilo (19,6 kg) a aprox. 20°C, y después se secó hasta 55°C a vacío para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido amarillo pálido (16,74 kg).

RMN ¹H δ_(DMSO) 8,51 (1H, d), 8,01-7,94 (2H, m), 7,72 (1H, d).

c) Ácido 2,6-dicloro-quinolin-5-carboxílico

5 Se cargó cloruro de isopropilo-magnesio 2,09M (27,0 l) en una vasija que contiene 2,6-dicloro-5-yodoquinolina (15,0 kg) y tetrahidrofurano desgasificado (103,4 kg) a 18°C hasta 25°C. Se cargó tetrahidrofurano (13,9 kg) como un enjuague en línea. La reacción se agitó a 18°C hasta 25°C durante 15 minutos, se enfrió a 10°C hasta 15°C, y se roció con dióxido de carbono gaseoso durante aprox. 6 horas, mientras se mantenía la temperatura a 5°C hasta 25°C. Se cargó metanol (12,3 kg) en la vasija a 15°C hasta 20°C, se agitó durante aprox. 30 minutos, y después se diluyó adicionalmente con agua (134,0 kg). El lote se concentró hasta aprox. 135 l mediante destilación a vacío (<40°C). El concentrado se diluyó con agua (121 kg), acetato de etilo (40,7 kg), y se ajustó a 20°C hasta 25°C. Las fases se dividieron, y la fase acuosa se lavó con acetato de etilo (3 x 40,8 kg). El pH de la fase acuosa se ajustó a pH 5,09 usando ácido clorhídrico 1M (3,97 l), y se lavó dos veces con terc-butilmetiléter (23,4 kg). El pH de la fase acuosa se ajustó a pH 1,35 usando ácido clorhídrico 2M (25,5 l), se agitó durante aprox. 1 hora a 22°C, y se filtró. La torta del filtro se lavó 4 veces con agua (aprox. 60 l) a aprox. 20°C, y después se secó hasta 55°C a vacío para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido amarillo pálido (8,74 kg).

RMN ¹H δ_(DMSO) 14,41 (1H, br s), 8,32 (1H, d), 8,10 (1H, dd), 7,97 (1H, d), 7,77 (1H, d).

d) O,O'-(S)-(1,1'-dinaftil-2,2'-diil)-N,N'-di-(R,R)-1-feniletifosforamidito

20 Se cargó (R-(R,R))-(+)-bis(alfa-metilbencil)amina (0,35 kg) en una vasija que contiene tricloruro de fósforo (0,1365 kg), tolueno (3,15 l) y trietilamina (0,714 l), mientras se mantenía la temperatura a 18°C hasta 25°C. Se cargó tolueno (0,35 l) como un enjuague en línea. Después de 3,5 horas, se cargó una disolución de (S)-(-)-1,1'-bi(2-naftol) (0,445 kg) como una disolución en tetrahidrofurano (0,70 l) mientras se mantenía la temperatura a 20°C hasta 26°C. Se cargó tetrahidrofurano (0,35 l) como un enjuague en línea. La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente, y después se filtró a través de sílice [9 cm (h) x 19 cm (w)]. El producto se eluyó con tolueno (10 x 1,75 l). Los filtrados combinados se concentraron a vacío hasta aprox. 1 l a <35°C, y después se diluyeron con acetonitrilo (5,6 l). La suspensión resultante se enfrió a 0°C hasta 5°C, se agitó durante aprox. 1 hora, y después se filtró. La torta del filtro se lavó con acetonitrilo (2 x 0,70 l) y se secó bajo nitrógeno en el filtro para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido incoloro (0,65 kg).

30 RMN ¹H δ_(CDCl₃) 7,95-7,87 (4H, m), 7,59 (1H, s), 7,47-7,36 (4H, m), 7,29-7,20 (3H, m), 7,18-7,03 (10H, m), 4,58-4,44 (2H, m), 1,72 (6H, d).

e) (S)-3-Metilciclohexanona

35 Se cargó tolueno (38,1 kg) en una vasija que contiene O,O'-(S)-(1,1'-dinaftil-2,2'-diil)-N,N'-di-(R,R)-1-feniletifosforamidito (0,448 kg) y trifluoro-metanosulfonato de cobre(II) (0,132 kg), y se agitó a 21°C durante aprox. 90 minutos. La vasija se purgó con argón, se enfrió a -25°C hasta -30°C y se cargó con ciclohex-2-en-1-ona (14,0 kg), mientras se mantenía la temperatura a -25°C hasta -30°C. Se cargó tolueno (12,1 kg) como un enjuague en línea/vasija. Se cargó dimetilcinc 2M en tolueno (aprox. 84,5 l), manteniendo la temperatura a -20°C hasta -30°C durante aprox. 4,5 horas. Se cargó tolueno (12,5 kg) como un enjuague en línea/vasija. La reacción se agitó a -20°C hasta -30°C durante aprox. 10 horas antes de que el lote se paralizara en metanol enfriado (54,5 kg) durante aprox. 45 minutos, mientras se mantenía la temperatura a <10°C. El lote se diluyó con tolueno (5,5 kg), se agitó a 7°C durante 1 hora, se calentó hasta 18°C, y después se agitó durante 6 horas adicionales. La mezcla de reacción se filtró usando un filtro de membrana de 100 μm y 1 μm, y la torta del filtro se lavó dos veces con tolueno (13 kg) a aprox. 20°C. La mezcla de reacción se concentró hasta 70 l a presión atmosférica, y después se purificó mediante destilación de película barrida para proporcionar el compuesto del subtítulo (13,13 kg) como una disolución en tolueno.

45 RMN ¹H δ_(CDCl₃) 2,45-2,15 (3H, m), 2,10-1,80 (4H, m), 1,75-1,55 (1H, m), 1,40-1,25 (1H, m), 1,05 (3H, d).

f) (3S,5S)-5-Metil-1-oxa-espiro[2,5]octano

50 Una disolución de terc-butóxido de potasio (11,6 kg) en dimetilsulfóxido (36 kg) se cargó a una mezcla de yoduro de trimetilsulfoxonio (22,68 kg) en dimetilsulfóxido (36,2 kg), mientras se mantenía la temperatura a 15°C hasta 25°C. Se cargó dimetilsulfóxido (11,5 kg) como un enjuague en línea/vasija, y el lote se agitó a 15°C hasta 25°C durante 90 minutos. Una disolución toluénica (61,02 kg) que contiene 3-metil-ciclohexanona (10,50 kg) se cargó a la reacción mientras se mantenía la temperatura a 15°C hasta 25°C. Se cargó tolueno (9,9 kg) como un enjuague en línea/vasija. El lote se agitó durante 2 horas, se paralizó mediante adición de agua (94,5 kg) mientras se mantenía la temperatura a 15°C hasta 25°C, y después se filtró. Se cargó agua (11,0 kg) como un enjuague en línea/vasija. Las fases se dividieron y la fase orgánica se retuvo como una disolución del compuesto del subtítulo (11,1 kg) en tolueno.

55

RMN ^1H $\delta_{(\text{CDCl}_3)}$ 2,61 (2H, dd), 2,00-1,36 (6H, m), 1,32-1,16 (2H, m), 1,05-0,80 (4H, m).

g) (1S,3S)-1-[(Bencilamino)metil]-3-metil-ciclohexanol. HCl

5 Se cargó bencilamina (20,4 kg) a una disolución toluénica (72,3 kg) de (3S,5S)-5-metil-1-oxa-espiro[2,5]octano (9,69 kg) e isopropanol (22,2 kg) mientras se mantenía la temperatura a 15°C hasta 25°C. Se cargó isopropanol (15,6 kg) como un enjuague en línea/vasija, y el lote se ajustó a 68°C hasta 72°C. Después de aprox. 5,5 horas, el lote se enfrió a 6°C, y se cargó con ácido clorhídrico en isopropanol [preparado con cloruro de acetilo (24,4 kg) e isopropanol (26,7 kg)], de manera que la temperatura se mantuvo a 0°C hasta 20°C. Se cargó *terc*-butilmetil-éter frío (35,9 kg) mientras se mantenía la temperatura a 0°C hasta 20°C, y después se agitó a aprox. 10°C durante 90 minutos. La suspensión resultante se filtró, la torta del filtro se lavó dos veces con *terc*-butilmetiléter (aprox. 35 kg) a aprox. 10°C, y después se secó en el filtro a vacío durante aprox. 10 horas para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido incoloro (20,29 kg).

10 RMN ^1H $\delta_{(\text{CDCl}_3)}$ 9,40 (1H, br s), 7,63-7,60 (2H, m), 7,44-7,36 (3H, m), 4,31 (1H, s), 4,23 (2H, s), 2,74 (2H, s), 2,10-1,45 (7H, m), 1,11 (1H, dt), 0,83 (3H, d), 0,87-0,68 (1H, m).

h) (1S,3S)-Aminometil-3-metil-ciclohexanol. HCl

15 Se cargó hidróxido de sodio 20% p/v (50 l) en una vasija que contiene (1S,3S)-1-[(bencilamino)metil]-3-metilciclohexanol. HCl (que contenía 25 kg, 13,93 kg) y *terc*-butilmetiléter (88,6 kg) mientras se mantenía la temperatura a 18°C hasta 25°C. Las fases se dividieron, y la fase acuosa se extrajo dos veces con *terc*-butilmetiléter (37,2 kg). Los extractos orgánicos combinados se volvieron a cargar en la vasija, se enjuagó en línea con *terc*-butilmetiléter (20,2 kg), y se concentraron hasta aprox. 75 l a presión atmosférica. Se cargó *terc*-butilmetiléter (52,6 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 75 l a presión atmosférica. Se cargó etanol absoluto (118,6 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 75 l a 30°C hasta 45 C. La temperatura se ajustó hasta aprox. 20°C, y después se cargó a una vasija purgada con nitrógeno que contiene paladio al 5% sobre carbón (5,00 kg). Se cargó etanol absoluto (63,0 kg) como un enjuague en línea/vasija. La vasija se colocó en una atmósfera de hidrógeno, se ajustó a 58°C hasta 62°C y se agitó durante 12 horas. La reacción se enfrió a 18°C hasta 25°C, se purgó con nitrógeno y se filtró. Se recirculó etanol absoluto (20,8 kg) a través de/alrededor de la vasija/líneas y la torta del filtro para recuperar producto. Se recirculó etanol absoluto (19,7 kg) a través de/alrededor de la vasija/líneas y la torta del filtro para recuperar producto. Los filtrados combinados se concentraron hasta aprox. 75 l a 30°C hasta 45°C, y después se diluyeron con éter diisopropílico (132,3 kg). La mezcla de reacción se calentó a reflujo y se concentró hasta aprox. 75 l a presión atmosférica. Se cargó éter diisopropílico (124,6 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 75 l a presión atmosférica. Se cargó éter diisopropílico (123 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 75 l a presión atmosférica. La mezcla se enfrió a 5°C hasta 10°C, y se cargó con HCl en etanol [preparado con cloruro de acetilo (7,68 kg) y etanol (49,9 kg)], de manera que la temperatura se mantuvo a 5°C hasta 20°C. Se cargó éter diisopropílico frío (73,2 kg), mientras se mantenía la temperatura a 5°C hasta 20°C, y después se agitó a aprox. 7°C durante 1 hora. La suspensión resultante se filtró, la torta del filtro se lavó dos veces con éter diisopropílico (aprox. 38 kg) a aprox. 20°C, y después se secó en el filtro a vacío durante aprox. 10 horas para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido incoloro (8,02 kg).

35 RMN ^1H $\delta_{(\text{D}_2\text{O})}$ 3,06 (2H, s), 1,84-1,60 (7H, m), 1,44-1,30 (1H, m), 1,10 (1H, t), 1,02-0,87 (4H, m).

i) 2,6-Dicloro-N-[(1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil]-quinolin-5-carboxamida

40 Se cargó cloruro de tionilo (7,2 kg) en una vasija que contiene ácido 2,6-dicloro-quinolin-5-carboxílico (5,00 kg) y tolueno (43,0 kg). Se cargó tolueno (13,1 kg) como un enjuague en línea. La reacción se ajustó a 82°C hasta 84°C, y se agitó durante aprox. 7 horas. El lote se enfrió hasta <40°C, y se concentró hasta aprox. 25 l mediante destilación a vacío a 30°C hasta 40°C. Se cargó tolueno (43,5 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 25 l a 30°C hasta 40°C. Se cargó tolueno (22,0 kg), y la temperatura se ajustó a 20°C hasta 25°C. Después se cargó esta disolución toluénica a una mezcla enfriada de hidrocloreuro de (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol (3,70 kg), tetrahidrofurano (43,5 kg) y trietilamina (6,26 kg), de manera que la temperatura se mantuvo a 5°C hasta 10°C. Se cargó tolueno (4,6 kg) como un enjuague en línea. Después de 4 horas, la temperatura se ajustó a 20°C hasta 25°C, y se paralizó mediante adición agua (25 kg) mientras se mantenía la temperatura a 20°C hasta 25°C. La temperatura se ajustó a 40°C hasta 45°C durante 20 minutos antes de que las fases se separaran. La fase orgánica se lavó con agua (25 l) a 40°C hasta 45°C, y después se concentró hasta 45 l a 25°C hasta 40°C. Se cargó tolueno (42,7 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 45 l a 25°C hasta 40°C. Se cargó tolueno (43,2 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 45 l a 25°C hasta 40°C. La mezcla de reacción se calentó entonces hasta reflujo para lograr la disolución completa, se enfrió a 20°C hasta 25°C durante 2,5 horas, y después se agitó durante 2,5 horas a 20°C hasta 25°C. La suspensión resultante se filtró, y la torta del filtro se lavó dos veces con tolueno (aprox. 9 kg) a aprox. 20°C, y después se secó hasta 55°C a vacío para proporcionar el compuesto del subtítulo como un sólido incoloro (5,88 kg).

55 RMN ^1H $\delta_{(\text{DMSO})}$ 8,66 (1H, t), 8,25 (1H, d), 8,04 (1H, d), 7,91 (1H, d), 7,76 (1H, d), 4,24 (1H, s), 3,35-3,25 (se espera que sea 2H, d; sin embargo, la señal está oscurecida por la señal de agua), 1,85-1,45 (6H, m), 1,32 (1H, dt), 1,05 (1H, t), 0,92-0,71 (4H, m).

j) 6-Cloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-2-[(3*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida

Se cargó metanol (36,9 kg) en una vasija que contiene 2,6-dicloro-*N*-{[(1*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil}-quinolin-5-carboxamida (5,85 kg), hidrocloreto de (*R*)-3-hidroxi-pirrolidina (4,15 kg), acetonitrilo (32,5 kg) y trietilamina (9,8 kg). La vasija se calentó hasta reflujo. Después de aprox. 70 horas, el lote se enfrió a 40 hasta 45°C, y se aclaró a través de un filtro de membrana de 1 µm. Se cargó metanol (4,7 l) como un enjuague en línea/vasija, y el lote se concentró hasta aprox. 29 l a presión atmosférica. Se cargó acetonitrilo (46,8 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 29 l a presión atmosférica. Se cargó acetonitrilo (46,8 kg), y el lote se concentró hasta aprox. 29 l a presión atmosférica. El lote se enfrió a 18°C hasta 25°C, se diluyó con agua (56,5 kg) y se agitó durante 1 hora. La suspensión resultante se filtró, la torta del filtro se lavó dos veces con agua (aprox. 30 kg), y después se secó hasta 45°C a vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido incoloro [5,6 kg, 100% ee, 98,5% de (el exceso de todos los estereoisómeros posibles según se determina mediante HPLC estereoquímica analítica)].

RMN ¹H δ_(DMSO) 8,53 (1H, t), 7,84 (1H, d), 7,59-7,51 (2H, 2 x d), 6,99 (1H, d), 5,03 (1H, d), 4,45 (1H, brs), 4,19 (1H, s), 3,79-3,41 (4H, m), 3,31 (2H, d), 2,13-1,29 (9H, m), 1,08 (1H, t), 0,94-0,73 (4H, m).

Análisis farmacológicos

15 Ensayo de P2X₇

Se sabe que algunos compuestos tales como el trifosfato de benzoilbenzoil-adenosina (bbATP) son agonistas del receptor P2X₇, produciendo la formación de poros en la membrana plasmática (Drug Development Research (1996), 37(3), p. 126). Por consiguiente, cuando el receptor se activa usando bbATP en presencia de bromuro de etidio (una sonda de ADN fluorescente), se observa un aumento en la fluorescencia del bromuro de etidio unido al ADN intracelular. El aumento de fluorescencia se puede usar como una medida de la activación del receptor P2X₇, y por lo tanto para cuantificar el efecto de un compuesto en el receptor P2X₇.

De esta forma, cada uno de los compuestos del título de los Ejemplos se ensayó para determinar la actividad antagonista en el receptor P2X₇. Por lo tanto, el ensayo se llevó a cabo en placas de microtitulación de fondo plano de 96 pocillos, llenándose los pocillos con 250 µl de disolución de ensayo que comprendía 200 µl de una suspensión de células THP-1 (2,5 x 10⁶ células/ml) que contenía bromuro de etidio 10⁻⁴ M, 25 µl de una disolución tampón de alto contenido de potasio que contenía bbATP 10⁻⁵ M, y 25 µl de la disolución tampón de alto contenido de potasio que contenía concentraciones del compuesto de ensayo normalmente de 30 µM - 0,001 µM. La placa se cubrió con una lámina de plástico y se incubó a 37°C durante 1 hora. Después, la placa se leyó en un lector de placas fluorescente Perkin-Elmer, excitación a 520 nm, emisión a 595 nm, anchuras de rejillas: Ex 15 nm, Em 20 nm. Con fines comparativos, se usaron por separado bbATP (un agonista del receptor P2X₇) y piridoxal-5-fosfato (un antagonista del receptor P2X₇) en el ensayo como controles. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó un valor de pCl₅₀, siendo este valor el logaritmo negativo de la concentración de compuesto de ensayo necesaria para reducir la actividad agonista de bbATP en 50%.

Protocolo de unión a hERG

35 El ensayo de hERG se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO2005/037052. La afinidad (pCl₅₀) de los compuestos por la subunidad del canal iónico codificado por el gen humano relacionado con el gen éter-a-go-go (hERG) se determinó por unión competitiva del radioligando 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5-³H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano a membranas celulares de HEK (riñón embrionario humano) que expresaban hERG, en un formato de lavado en filtro.

40 Las membranas se incubaron durante 3 horas a temperatura ambiente con diluciones en serie de los compuestos de ensayo, el radioligando 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5-³H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano a una concentración final 1 nM, y tampón de ensayo (HEPES 10 mM, NaCl 130 mM, KCl 5 mM, EGTA 1 mM, MgCl₂ 0,8 mM, pH 7,4). El ensayo se llevó a cabo en un volumen final de 200 µl, en presencia de dimetilsulfoxido al 1% (v/v). Se determinó la unión no específica midiendo la unión de 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5-³H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano en presencia de astemizol 10 µM. Durante esta incubación, las placas de filtro GF/B se sumergieron en disolución de revestimiento de polietilenimina al 0,3% (v/v) y BSA al 0,2% (p/v). Después de la incubación, las placas de ensayo se recogieron sobre placas de filtro GF/B prerrevestidas usando un recolector Tomtec.

Se determinó la pCl₅₀, definida como el logaritmo negativo de la concentración de compuesto requerida para reducir un 50% la unión del 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5-³H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano. Un símbolo "menor que" indica una inhibición <50% a la concentración dada, siendo esta la mayor concentración ensayada.

Resultados

Cada uno de los compuestos de los Ejemplos demostró actividad antagonista de P2X₇ muy elevada, con un valor de pCl₅₀ ≥8,0. Además, cada uno de los compuestos presentó actividad de hERG particularmente baja, con menos de 50% de inhibición a la concentración más elevada ensayada. La tabla 1 muestra los valores de pCl₅₀ de P2X₇ y los

valores de pCl_{50} de hERG para los compuestos de los Ejemplos 1-4 (isómero 2) y los compuestos comparativos ilustrados en el documento WO 2004/106305 (Ejemplos 29, 36, 44 y 50).

Tabla 1

Ejemplo número	pCl_{50} de P2X ₇	pCl_{50} de hERG	Relación P2X ₇ :HERG
1	8,1	<4	>10.000
2	8,1	<4	>10.000
3	8,1	<4	>10.000
4 – isómero 2	8,0	<4	>10.000
29 WO 2004/106305	7,2	4,5	502
44 WO 2004/106305	8,2	5,1	1258
36 WO 2004/106305	7,9	4,9	1000
50 WO 2004/106305	7,5	4,9	398

- 5 Los compuestos de acuerdo con la presente invención registraron un valor de IC_{50} de P2X₇ a concentraciones de 10 nM o menores. Además, no presentaron suficiente actividad para registrar una IC_{50} para hERG a una concentración de 100 μ M. Por consiguiente, los compuestos de la presente invención tienen una relación de afinidad de P2X₇:hERG de >10.000. Los compuestos comparativos, Ejemplos 29, 36, 44 y 50 del documento WO 2004/106305, respectivamente, registraron una IC_{50} para hERG a una concentración 32 μ M, 8 μ M, 13 μ M y 13 μ M y requerían una
10 concentración de 63 nM, 6 nM, 13 nM y 32 nM para registrar una IC_{50} para P2X₇. Por consiguiente, sus relaciones de afinidad P2X₇:hERG eran sólo 502, 1258, 1000 y 398 respectivamente.

Biodisponibilidad - PK de rata

- 15 Se usan parámetros y conceptos farmacocinéticos en DMPK para describir el destino de un compuesto en el cuerpo. La distribución y excreción de un compuesto se reflejan en el perfil de concentración plasmática - tiempo. Mediante la dosificación, toma de muestras y análisis adecuados, se pueden determinar los parámetros clave (aclaramiento, volumen, semivida, biodisponibilidad, etc.).

- 20 Los compuestos de ensayo se dosificaron típicamente por vía intravenosa en la vena lateral derecha de la cola de ratas Sprague Dawley macho a un nivel de dosis de 3 mg/kg (1 ml/kg) en DMA:agua (40:60 v/v). Se administró a las ratas por vía oral un nivel de dosis de 5 mg/kg (2 ml/kg) en hidroxipropilmetilcelulosa al 0,5% (HPMC, p/v)/Tween 80 al 0,1% (v/v) en agua). Después de la administración IV, se tomaron muestras de sangre en serie (200 μ l) de la vena lateral izquierda de la cola a los 2, 4, 8, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 420, 720 y 1440 min., y a los 0, 20, 40, 60, 120, 180, 300, 420, 720 y 1440 min. después de la administración oral. El plasma se preparó por centrifugación.

- 25 Para determinar los niveles plasmáticos del compuesto de ensayo, se añadieron 50 μ l de metanol a 50 μ l de cada una de las muestras de ensayo, mientras que se añadieron 40 μ l de metanol a las alícuotas de 50 μ l del plasma de control que contenía adiciones de 10 μ l del patrón auténtico usado para crear la recta de calibración y CC (control de calidad). Finalmente, se añadieron 100 μ l de metanol que contiene un patrón interno químicamente similar, a cada muestra, patrón y referencia del CC, dando un volumen final de 200 μ l. Después, todas las muestras de plasma se
30 mezclaron bien y se pusieron a -20°C durante al menos 1 hora antes de la centrifugación. Los sobrenadantes resultantes se analizaron por HPLC-MSMS después de crear un método adecuado, selectivo y sensible, optimizando tanto el voltaje de cono como la energía de colisión.

Los parámetros farmacocinéticos se obtuvieron a partir de la concentración-tiempo usando análisis no compartimental en WinNonLin®. La biodisponibilidad se calculó usando la siguiente ecuación $F = AUC_{PO} \cdot Dosis_{IV} / AUC_{IV} \cdot Dosis_{PO}$.

Biodisponibilidad p.o. en rata para el Ejemplo 2 = 59%.

Protocolo de fosfolipidosis *in vitro*

La evaluación del potencial de los compuestos para inducir fosfolipidosis se determinó por un ensayo de fluorescencia *in vitro* que da la acumulación de fosfolípidos en hepatocitos primarios de rata. Se aislaron hepatocitos de ratas Han Wistar mediante un método de digestión de colagenasa de 2 etapas. Después, los hepatocitos se cultivaron en placas de 96 pocillos revestidas de colágeno en medio E de William. Se dejó que las células se adhirieran durante 1 hora y después el medio se sustituyó por una disolución de colágeno $250 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ en medio de cultivo celular Hepatozyme.

Después, las células se cultivaron durante 48 horas, cambiándose el medio a las 24 horas. 48 horas después del aislamiento, el medio se cambió a Hepatozyme suplementado con el fosfolípido fluorescente N-(6-tetrametilrodaminatiocarbamoil)-1,2-dihexadecanoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DHPE-TRITC) ($5 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). En este momento se añadieron los compuestos de ensayo a los hepatocitos en un intervalo de concentraciones en una dilución en serie con una concentración final de dimetilsulfóxido al 0,4% (usado como disolvente para los compuestos de ensayo).

Las células se incubaron durante 24 horas más, y después se fijaron por adición de una disolución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía el colorante nuclear Hoechst 33342 (concentración final $2 \mu\text{M}$) y disolución de paraformaldehído (concentración final al 4%). Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos, y después se lavaron 3 veces en disolución de PBS.

Después se adquirieron imágenes de los hepatocitos usando una plataforma de microscopio automática (GE In Cell Analyser 3000). Después se usaron los algoritmos de análisis de imágenes para evaluar la viabilidad celular y la acumulación del marcador DHPE-TRITC dentro de los hepatocitos viables. La acumulación cuantificada observada con los compuestos de ensayo se normalizó después a un intervalo de 0, que representa la acumulación observada en células expuestas a vehículo sólo, y 1, que representa células expuestas a amiodarona $10 \mu\text{M}$. Se describe la acumulación máxima a lo largo de la respuesta a la dosis del compuesto de ensayo, cuando la viabilidad celular es $>50\%$, que es la dosis a la cual se observa este máximo. También se describe la dosis más baja que produjo una toxicidad celular $>50\%$. La toxicidad en células individuales se identifica como un cambio en el marcaje nuclear a una morfología punteada, condensada.

Se sabe que la dosis a la que se observa la fosfolipidosis está correlacionada inversamente con la incidencia *in vivo* de la fosfolipidosis (David K Monteith, Ryan E Morgan y Bartley Halstead (2006) "In vitro assays and biomarkers for drug-induced phospholipidosis". Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, vol. 2 (5), p. 687-696).

El Ejemplo 2 de acuerdo con la presente invención no registró acumulación medible, incluso a una concentración de ensayo máxima de $250 \mu\text{M}$. Además, registró una concentración tóxica mínima de $>250 \mu\text{M}$.

Medida de la unión a proteínas plasmáticas

El grado de unión a proteínas plasmáticas se determinó mediante dialisis de equilibrio de un compuesto entre plasma humano y tampón acuoso a 37°C , y la determinación de las concentraciones de compuesto en el plasma y el tampón por HPLC-MS/MS.

Las celdas de diálisis (corte de peso molecular 5000) se prepararon lavando con agua seguido de inmersión en el tampón de diálisis durante un mínimo de 1 hora. El tampón de diálisis fue disolución salina tamponada isotónica pH 7,4. Se prepararon disoluciones madre del compuesto en dimetilsulfóxido a una concentración de $0,5 \text{ mM}$.

La disolución madre en DMSO del compuesto se añadió al plasma a una relación de $10 \mu\text{l}$ de DMSO a cada ml de plasma. Esto dio una disolución de DMSO al 1% en disolución de plasma con cada compuesto a una concentración $5 \mu\text{M}$.

Después se prepararon las celdas de diálisis, y una mitad de la celda se cargó con $750 \mu\text{l}$ de tampón de diálisis, y la otra mitad de la celda con $750 \mu\text{l}$ de disolución plasmática de compuesto. Una vez preparadas, las celdas se cerraron y se pusieron en una caja incubadora a 37°C . Después, estas celdas se hicieron girar durante un mínimo de 4 horas para equilibrarlas.

Después del equilibrado, se retiraron $500 \mu\text{l}$ de las muestras de tampón y se añadieron a viales de HPLC junto con $100 \mu\text{l}$ de plasma (muestra en plasma diluido 6 veces), y se retiraron $100 \mu\text{l}$ de muestras plasmáticas y se añadieron a viales de HPLC junto con $500 \mu\text{l}$ de tampón de diálisis (muestra en plasma diluido 6 veces).

Después, las muestras se analizaron usando HPLC-MS/MS. Se obtuvo una curva de calibración de 4 puntos mediante diluciones de las disoluciones madre con plasma diluido 6 veces, a concentraciones de $0,013 \mu\text{M}$, $0,05 \mu\text{M}$, $0,25 \mu\text{M}$ y $1,25 \mu\text{M}$, que se inyectaron en este orden, seguido de la muestra de tampón y después la muestra plasmática.

Cálculos

La concentración de compuesto en las muestras se determinó usando el software MassLynx version 4.1 (producido por Waters/Micromass), que calculaba automáticamente una curva de calibración e interpolaba la concentración del compuesto en los analitos. La unión de proteínas plasmáticas se determinó a partir de la concentración medida, como porcentaje de compuesto unido en el plasma (% unido) usando la siguiente ecuación;

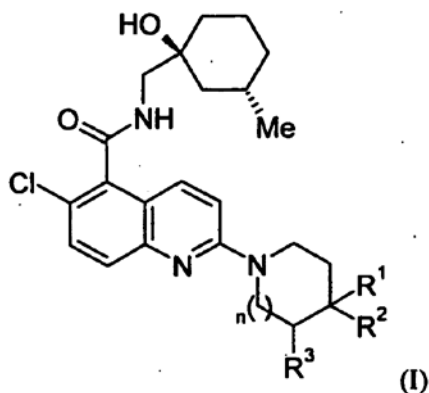
$$\% \text{ unido} = 100 - 100 \left(\frac{1,05(6 * \text{conc. plasma} - 1,2 * \text{conc. tampón})}{1,05(6 * \text{conc. plasma} - 1,2 * \text{conc. tampón}) + 1,2 * \text{conc. tampón}} \right)$$

5

Unión de proteínas plasmáticas humanas (% unido) de Ejemplo 2 = 88%.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en la que n es 0 ó 1;

5 cuando n es 0, R¹ representa hidrógeno o metilo, R² representa hidroxilo, y R³ representa hidrógeno; y cuando n es 1, R¹ representa hidrógeno y uno de R² y R³ representa hidroxilo y el otro de R² y R³ representa hidrógeno.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que n es 0, R¹ representa hidrógeno o metilo, R² representa hidroxilo, y R³ representa hidrógeno.

10 3. Un compuesto según la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ representa hidrógeno.

4. Un compuesto según la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ representa metilo.

15 5. Un compuesto según la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que n es 1, R¹ representa hidrógeno, y uno de R² y R³ representa hidroxilo y el otro de R² y R³ representa hidrógeno.

6. Un compuesto según la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R² representa hidroxilo y R³ representa hidrógeno.

7. Un compuesto según la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R² representa hidrógeno y R³ representa hidroxilo.

20 8. Un compuesto de fórmula (I), seleccionado de:

6-cloro-N-[[1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil]-2-[(3S)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida,

6-cloro-N-[[1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil]-2-[(3R)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il]quinolin-5-carboxamida,

6-cloro-N-[[1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil]-2-(4-hidroxipiperidin-1-il)quinolin-5-carboxamida, y

6-cloro-N-[[1S,3S)-1-hidroxi-3-metilciclohexil]metil]-2-(3-hidroxi-3-metilpirrolidin-1-il)quinolin-5-carboxamida,

25 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en asociación con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

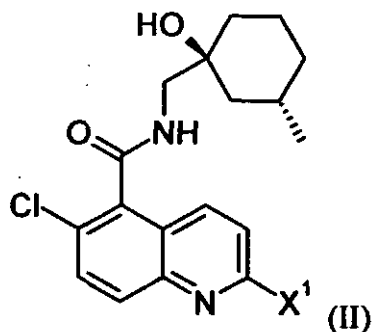
30 10. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica según la reivindicación 9, que comprende mezclar un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

11. Un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para uso en terapia.

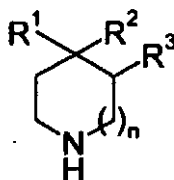
35 12. Uso de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de artritis reumatoide.

13. Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I), como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende:

(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



5 en la que X¹ representa un grupo saliente adecuado, con un compuesto de fórmula (III)



(III)

en la que R¹, R², R³ y n son como se definen en la fórmula (I), y formar opcionalmente una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto.

14. Un compuesto que es (1S,3S)-1-(aminometil)-3-metilciclohexanol, o una sal del mismo.